

УДК 619:616.98:578.825.15:636.2

## СКРИНИНГОВЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПО ИЗУЧЕНИЮ НАЛИЧИЯ В БАЦИЛЛАХ ГЕНОМА ВИРУСА ИНФЕКЦИОННОГО РИНОТРАХЕИТА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

<sup>1</sup>П. П. Красочко, кандидат ветеринарных наук<sup>2</sup>Е. С. Журавлева, кандидат ветеринарных наук<sup>2</sup>Д. С. Борисовец, кандидат ветеринарных наук<sup>2</sup>П. С. Чайковский, биолог<sup>2</sup>В. Л. Радько, биолог<sup>1</sup>Витебская ордена «Знак Почета» государственная  
академия ветеринарной медицины<sup>2</sup>Институт экспериментальной ветеринарии

им. С. Н. Вышелесского

E-mail: krasochko@mail.ru

**Ключевые слова:** вирус инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота, бациллы, полимеразная цепная реакция, геном вируса, общие антигены, персистенция генома вируса

**Реферат.** Целью настоящей работы явилось проведение скрининговых исследований по изучению наличия в бациллах генома вируса инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота. Установление наличия генома вируса инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота в бациллах осуществлялось в несколько этапов. На первом этапе проведен скрининг антигенного родства *е* вируса с бактериями в реакции агглютинации с поливалентной сывороткой, на втором этапе – подтверждение общих антигенов в реакции торможения непрямо́й гемагглютинации, на третьем этапе – оценка антителообразования после иммунизации животных взвесью бацилл в сравнительном аспекте с культуральным вирусом ИРТ, на четвертом этапе – установление наличия генома вируса с помощью полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с праймерами, гомологичными консервативным участкам генов гликопротеина *D* и гликопротеина *B*. В результате установлено, что при исследовании 70 штаммов 28,6 % прореагировали в РА в титрах  $6,3\text{--}7,3 \log_2$ , 15,7 – в титрах  $8,3 \log_2$ , 4,3 –  $9,3 \log_2$ , 4,3 % –  $11,3 \log_2$ . При изучении в РТНГА 15 штаммов бацилл сорбировали антитела к вирусу ИРТ на поверхности бактерий – 10 штаммов способствовали падению титра антител в 32–64 раза, 4 штамма – в 16 раз, 1 штамм – в 8 раз. В ПЦР у 3 штаммов выявлены гомологичные консервативные участки генов гликопротеина *D* и гликопротеина *B* вируса ИРТ. Установленный феномен свидетельствует о том, что в бактериях может персистировать геном инфекционного вируса, и они могут экспрессировать специфические для вирусов животных антигены, стимулируя тем самым выработку противовирусных антител у животных.

Выявление антигенного родства или перекрестно реагирующих антигенов у микроорганизмов, вирусов или тканей млекопитающих стало возможным благодаря длительному изучению строения микробов и усовершенствованию иммунологических методов антигенного анализа. Доказано, что наличие общих антигенов различных видов микроорганизмов и тканей млекопитающих – не случайный и единичный факт, а широко распространенное явление, играющее важную роль в иммунологии, инфекционной и неинфекционной патологии человека и животных. Биологическое значение феномена общности антигенов может быть самым разнообразным. Оно в значительной степени зависит от соответствия их тем или иным

субстанциям тканей млекопитающих и от толерантности к ним самого организма.

Наибольшее число работ посвящено исследованию сходных антигенов у стрептококков группы А и сердечной ткани человека и животных [1–4]. Подобные антигены обнаружены в эритроцитах, почечной ткани, слизистой кишечника, носоглотке и других органах и тканях; они реагируют с кишечными, дизентерийными, паратифозными палочками, пневмококками, бациллами сибирской язвы, чумным микробом, холерным вибрионом, вирусами оспы, гриппа и другими возбудителями [5, 6]. Широко представлены родственные антигены и внутри разных групп микроорганизмов и вирусов, доказано сходство антигенов у микроорганизмов и опухолевых клеток [5].

Относительно причин появления общности антигенов у клеток микро- и макроорганизмов и их биологического значения выдвинут ряд предположений, каждое из которых может иметь самостоятельное значение. Эти причины могут быть следующие:

- закономерности процесса происхождения и развития живых существ;
- случайное совпадение иммунологических структур микро- и макроорганизмов в процессе их жизнедеятельности;
- воздействие мутагенных факторов, изменяющих метаболизм микробной клетки и стимулирующих синтез новых биохимических субстанций, подобных у обоих партнеров и вызывающих идентичные или сходные иммунные реакции;
- образование гибридных микробно-животных клеток «химер» на фоне врожденных или приобретенных нарушений обмена веществ и других патологических состояний [5].

При анализе литературы описан механизм развития общности антигенов у бактерий и вирусов, на основании чего в 2005 г. зарегистрировано научное открытие «Явление спонтанной персистенции генома инфекционных вирусов животных в бактериальных клетках» [7].

При этом было доказано, что общность антигенов вирусов и бактерий обусловлена наличием генома вируса инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота в бактериальной клетке, которое установлено точечной гибридизацией с радиоактивной меткой с использованием ДНК-зонда, постановкой полимеразной цепной реакции (ПЦР) при установлении комплементарности участков ДНК вируса инфекционного ринотрахеита в *Bacillus alvei* и участков РНК вируса диареи в *Bacillus subtilis* [7, 8].

Современные достижения молекулярной биологии и геной инженерии позволили получать рекомбинатные бактерии, которые в своем составе имеют искусственно введенный геном других организмов (вирусов, животных, насекомых, растений и т.д.).

Целью настоящего исследования явилось проведение скрининговых исследований по изучению наличия в бациллах генома вируса инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота.

## ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Объектом исследований служили 70 штаммов непатогенных спорообразующих бацилл,

выделенных из объектов животноводства (почва, навоз, кишечное содержимое) из различных животноводческих хозяйств Республики Беларусь.

Выделение бацилл из отобранных проб проводили в соответствии с методом, описанным в методических указаниях «Лабораторная диагностика и обнаружение возбудителя сибирской язвы. МУК 4.2.2413–08». Для этого исследуемый материал разводили стерильным изотоническим раствором натрия хлорида в соотношении 1:4 и прогревали при 80°C в течение 20 мин. После остывания проводили посев на чашку Петри с МПА из расчета 1–2 мл на чашку и ставили в термостат при 37° на 48 ч. Выросшие колонии пересеивали на плотные питательные среды и использовали в дальнейшей работе.

Идентификацию выделенных бацилл проводили с использованием автоматического анализатора Vitek.

Источником моноспецифических антител служила специфическая антисыворотка против вируса инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота (ИРТ), полученная путем гипериммунизации животных (бычков). Активность полученной сыворотки проверяли в реакции нейтрализации (РН) и иммуноферментном анализе (ИФА) с использованием тест-системы производства фирмы IDEXX.

Антигенное родство бацилл и вируса ИРТ изучали путем постановки реакции агглютинации макрометодом в объеме 0,25 мл по общепринятой методике [9]. Для подтверждения наличия в бактериях антигенов, родственных вирусам, использовали реакцию торможения непрямо́й гемагглютинации.

Наличие участков генома вирусов в бактериях, имеющих антигенное родство с вирусами, осуществляли с помощью методов молекулярной биологии – полимеразной цепной реакции (ПЦР) [10].

Для выявления комплементарных участков ДНК вируса инфекционного ринотрахеита в бациллах использовали две пары праймеров, гомологичных консервативным участкам генов гликопротеина D и гликопротеина В.

Подбор праймеров и зонда осуществляли с помощью программы AlleleID v6.0 на основе полных и частичных нуклеотидных последовательностей различных штаммов и изолятов вируса ИРТ из международного банка нуклеотидных последовательностей (GenBank). Синтез праймеров проводили фосфорамидитным методом на автоматическом синтезаторе олигонуклеотидов BIOSSET ASM 800 (Био-Рад).

Выделение ДНК осуществляли с помощью набора DNeasy Blood & Tissue Kit, QIAGEN, а также набора реагентов для выделения ДНК «Нуклеосорб. Комплектация С» (Праймтех, РБ).

Постановку ПЦР проводили в real-time амплификаторе RotorGene3000 и термоциклере CG1–96

производства Corbett Reserch (Австралия) по двум методикам: с использованием зонда Taqman для гликопротеина В и рутинной ПЦР для гликопротеина D.

ПЦР ставили в соответствии с температурно-временными циклами, представленными в табл. 1.

Таблица 1

Температурно-временные циклы при постановке ПЦР

Стадии амплификации	ПЦР для выявления гликопротеина В	ПЦР для выявления гликопротеина D
Первоначальное прогревание	95°C – 3 мин	95°C – 10 мин
Денатурация	95°C – 15 с	94°C – 45 с
Отжиг	60°C – 45 с	60°C – 30 с
Элонгация		72°C – 1 мин
Количество циклов	45	35

Реакционная смесь для ПЦР в реальном времени включала следующие компоненты: зонд Taqman (3 пмоль/мкл) 1 мкл, праймеры gBR и gBF (4,5 пмоль/мкл) по 1 мкл, смесь дезокси-нуклеозидтрифосфатов (3 мМ) 2,5 мкл, раствор  $MgCl_2$  (50 мМ) 2 мкл, аммонийный буфер для Taq-полимеразы (10X) 2,5 мкл, стерильная деионизированная вода 9,8 мкл, PrimeTaq-полимераза (5 ед/мкл) 0,2 мкл, раствор выделенной ДНК 5 мкл. Все используемые реагенты производства Праймтех, РБ. ПЦР осуществляли с парой праймеров GDF: 5'-ATATAAGCTTATGCAAGGGCCGACATTG GC-3' и IrR1: 5'-CGCGGAATTCGTACCCAAA GTGCTTCC-3', комплементарных фрагменту ДНК (1254 п.о.), кодирующему гликопротеин D. Состав реакционной смеси на 1 реакцию включал по 50 пмоль каждого праймера, 1 мкл смеси dNTP (10 мМ), 4 мкл  $MgCl_2$  (25мМ), 5 мкл, 10X TrueStart™ Taq Buffer (Thermo Scientific), 1 мкл (5 U) TrueStart™ Taq DNA Polymerase, воду деионизованную до конечного объема 40 мкл. В полученную смесь вносили 10 мкл выделенной ДНК.

Для изучения способности вызывать биосинтез специфических противовирусных антител бактериями, в которых выявлено наличие гена вируса, было взято 6 групп белых мышей по 5 животных в группе. Животных 1–3-й опытных групп иммунизировали бациллами, в которых обнаружены гены вируса, в дозе 0,2 мл подкожно с концентрацией 2–2,5 млрд микробных тел в 1 мл двукратно с интервалом в 14 дней. Животным 4-й опытной группы вводили вирус ИРТ при концентрации 7,0 lg ТЦД 50/мл в дозе 0,2 мл подкожно двукратно с интервалом в 14 дней. Животным 5-й опытной группы вводили бациллу, которая не реагировала в РА и в которой не выявлено гена вируса ИРТ, с концентрацией 2–2,5 млрд микроб-

ных тел в 1 мл двукратно с интервалом в 14 дней. Животные 6-й группы – контроль. Через 21 день после повторного введения бактерий и вируса у животных отбирали кровь для постановки РН с сыворотками по общепринятой методике [9].

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили с использованием компьютерной программы Microsoft Office Exel 2010 и программы Statistica 6.0.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

На первом этапе исследований с помощью реакции агглютинации выявляли наличие общих антигенов вирусов ИРТ, ВД, рота- и коронавируса в 70 штаммах бацилл, выделенных из объектов животноводства, с помощью поливалентных гипериммунных сывороток. В гипериммунных сыворотках титр антител в РНГА к каждому из вирусов был от 6,0 до 8,0  $\log_2$ , в РН – от 3,5 до 6,0  $\log_2$ . В табл. 2 представлены результаты постановки РА с поливалентными сыворотками.

Из представленных данных видно, что из 70 штаммов 20 (28,6%) прореагировали в РА с поливалентной сывороткой в титрах 6,3–7,3  $\log_2$ , 11 (15,7%) – в титрах 8,3  $\log_2$ , 3 (4,3%) – 9,3  $\log_2$ , 3 (4,3%) – 11,3  $\log_2$ , что позволяет высказать предположение о широком наличии в клеточной стенке бактерий общих антигенов с вирусами. При этом 6 штаммов (8,6%) не реагировали с сыворотками, а 14 штаммов (20%) реагировали в титрах от 3,3 до 4,3  $\log_2$ .

Дальнейшая работа была направлена на выявление способности сорбировать противовирусные антитела на клеточной поверхности с использованием реакции торможения непря-

Таблица 2

Результаты изучения антигенного родства бацилл и вирусов с поливалентными сыворотками в РА

Титр антител в $\log_2$	Количество реагирующих проб	
	ед.	%
0	6	8,6
3,3	6	8,6
4,3	8	11,4
5,3	13	18,5
6,3	10	14,3
7,3	10	14,3
8,3	11	15,7
9,3	3	4,3
10,3	0	0
11,3	3	4,3

Таблица 3

Изучения антигенного родства бацилл и вируса ИРТ в РТНГА

Номер штамма	Шифр изолята	Титр антител к вирусу ИРТ	Снижение титра антител, раз
Контроль (титр антител сыворотки)	-	1 : 256	-
1	A3	1 : 16	16
2	A5	1 : 16	16
3	A6	1 : 8	32
4	A7	1 : 8	32
5	A9	1 : 4	64
6	B4	1 : 8	32
7	B7	1 : 16	13
8	B11	1 : 8	32
9	B12	1 : 8	32
10	C4	1 : 8	32
11	C5	1 : 8	32
12	C6	1 : 16	16
13	C7	1 : 8	32
14	D3	1 : 8	32
15	D10	1 : 32	8
16 (отрицательная РА)	F1	1 : 256	0
17 (отрицательная РА)	F7	1 : 256	0

мой гемагглютинации. В табл. 2 представлены результаты постановки РТНГА для выявления общности антигенов бактерий и вирусов. РТНГА ставили в два этапа. На первом этапе в гипериммунную моноспецифическую сыворотку против вируса ИРТ вносили суспензию суточных культур 15 штаммов бацилл в соотношении 1 : 1, показавших максимальный титр в РА с поливалентной сывороткой, и 2 штамма, отрицательно реагировавших в РА. После взаимодействия антител с бактериальными антигенами и седиментации бактерий в сыворотке с оставшимися в надосадке антителами ставили РНГА.

Как видно из табл. 3, из 15 штаммов бацилл практически все сорбировали антитела к вирусу ИРТ на поверхности бактерий. Так, у 10 штам-

мов отмечено падение титра антител в 32–64 раза, у 4 штаммов – в 16, у 1 штамма – в 8 раз.

Полученные результаты свидетельствуют, что большинство штаммов бацилл, положительно реагирующих в РА с высоким титром, способствует связыванию противовирусных антител к вирусу ИРТ на поверхности бактериальных клеток. Наличие в бактериальных клетках вирусспецифических белков, выявляемых в иммунологических реакциях, а также генома вируса может стимулировать выработку вирусспецифических антител у животных, иммунизированных данными бактериями.

Для подтверждения данного факта нами проведены соответствующие исследования. Было взято 60 белых мышей, из которых сформировали 15 групп по 5 голов в группе. Мышам опыт-



ных групп вводили суспензию бактерий *Bacillus* sp. двукратно в следующих дозах: первая инъекция – 0,25 мл подкожно, вторая инъекция – через 7 дней в дозе 0,5 мл подкожно. Мышам 1-й опытной групп ввели суспензию бактерий – изолят А6, 2-й опытной группы – изолят А7, 3-й опытной группы – изолят А9, 4-й опытной группы – изолят В4, 5-й опытной группы – изолят В11, 6-й опытной группы – изолят В12, 7-й опытной группы – изолят С4, 8-й опытной группы – изолят С5, 9-й опытной группы – изолят С7, 10-й опытной группы – изолят D3, 11-й опытной группы – культуральный вирус ИРТ с титром 7,0 lg ТЦД 50/мл, 12-й животные группы – контроль.

Через 14 дней после последнего введения вируса и бактерий проведено тотальное обе-

скровливание мышей и с полученными сыворотками была поставлена реакция нейтрализации с использованием перевиваемых культур клеток МДБК. Исследуемые сыворотки разводили в поддерживающей среде (среда Игла с двойным набором витаминов и аминокислот ДМЭМ) от 1:2 до 1:32. В каждое разведение сывороток вводили соответствующий вирус при дозе 100 ТЦД 50/мл. После 2-часового контакта сывороток с вирусом смесь вируса с сывороткой внесли на сформированный, отмытый от остатков ростовой среды, монослой культуры клеток. Наблюдение за монослоем культур клеток производили на протяжении 7 суток.

В табл. 4 показаны результаты постановки реакции нейтрализации с сыворотками мышей.

Таблица 4

Результаты постановки реакции нейтрализации с сыворотками от иммунизированных бациллами мышей

№ п/п	Шифр изолята	Разведение							
		1:5	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640
1	А6	--	--	--	--	++-	++-	++-	++++
2	А7	--	--	--	+-	+++	++++	++++	++++
3	А9	--	--	+-	++	++++	++++	++++	++++
4	В4	--	--	+-	+-	++++	++++	++++	++++
5	В11	--	--	--	+-	++++	++++	++++	++++
6	В12	--	--	--	++	++++	++++	++++	++++
7	С4	--	--	--	--	+-	++++	++++	++++
8	С5	--	+-	+-	+++	++++	++++	++++	++++
9	С7	--	--	--	+-	++	++++	++++	++++
10	D3	--	--	--	++	++++	++++	++++	++++
11	Вирус ИРТ	--	--	--	--	++	+++	++++	++++
12	Контроль	++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++

Представленные данные свидетельствуют о том, что после иммунизации бактериями у животных вырабатываются противовирусные антитела, титр которых не ниже титра специфических антител, вырабатываемых у животных после иммунизации вирусом ИРТ. Так, у животных, которых иммунизировали различными изолятами бацилл, титр антител к вирусу ИРТ составлял от 1:20 до 1:40 log<sub>2</sub>, а у животных, получавших вирус ИРТ, 1:60 log<sub>2</sub>. Это свидетельствует о том, что введение животным бацилл, в клеточной стенке которых имеются вирусспецифические белки, способствует выработке вируснейтрализующих антител.

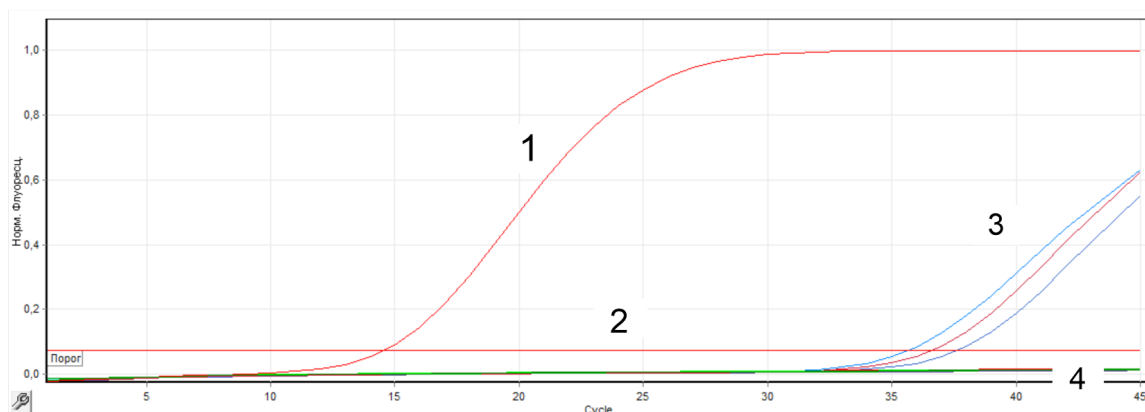
Полученные данные свидетельствуют о выработке противовирусных вируснейтрализующих антител у животных, иммунизированных бактериями с геномом вирусов и экспрессированными вирусспецифическими белками.

Далее нами проведены исследования по изучению наличия генома вируса инфекционного ринотрахеита в штаммах, показавших наивысшую антигенную активность, путем идентификации участков ДНК вируса ИРТ с помощью полимеразной цепной реакции.

Для определения наличия генома вируса ИРТ в изучаемых бациллах были отобраны изоляты, которые в предыдущем опыте показали наиболее высокое падение титра антител.

Из суточных культур бацилл на МПА были приготовлены смывы, из которых выделяли тотальную ДНК. Далее ее параллельно тестировали в ПЦР на наличие гликопротеина В и D. Результаты постановки ПЦР приведены в табл. 5 и на рисунке.

Приведенные в табл. 5 данные показывают, что в изолятах бацилл С4, С5 и С7 установлено наличие генома вируса ИРТ – как gB, так и gD генов. Это свидетельствует, что вирус ИРТ спосо-



Выявление гена гликопротеина В в изолятах бацилл: 1 – положительный контроль; 2 – пороговая линия; 3 – изоляты C5, C7, D3; 4 – отрицательный контроль и изоляты A6, A7, A9, B4, B11, B12, C4

Таблица 5  
Результаты выявления генома вируса ИРТ в изучаемых бациллах

№ п/п	Изолят бациллы	Наличие участков ДНКgB	Наличие участков ДНК gD
1	A6	–	–
2	A7	–	–
3	A9	–	–
4	B4	–	–
5	B11	–	–
6	B12	–	–
7	C4	–	–
8	C5	+	+
9	C7	+	+
10	D3	+	+
11	Положительный контроль (штамм вируса ИРТ КРС КМИЭВ-6)	+	+
12	Отрицательный контроль	–	–

бен персистировать в геноме бактерий, и бациллы являются носителями генетического материала вируса.

После проведения исследований осуществлена идентификация бацилл, имеющих геном вируса ИРТ, с помощью аппарата Vitek. Установлено, что изучаемые образцы относятся к роду *Bacillus*, виду *Bacillus licheniformis*.

Таким образом, в результате проведенных исследований доказано, что инфекционные вирусы животных способны проникать в бактериальную клетку и участки их генома интегрироваться в геном бактерий, что в дальнейшем приводит к биосинтезу вирусспецифических белков в бактериальной клетке.

Существование в природе естественно рекомбинированных вирусами штаммов бактерий, особенно почвенных сапрофитов, дает возможность по-новому смотреть на механизмы перекрестного

иммунитета и генетики микроорганизмов. До сих пор считалось, что перекрестный иммунитет возникает за счет действия на организм гетерологичных возбудителей или антигенов. Установленный феномен свидетельствует о том, что в бактериях может персистировать геном инфекционного вируса и они могут экспрессировать специфические для вирусов животных антигены, стимулируя тем самым выработку противовирусных антител у животных.

## ВЫВОДЫ

1. Изучение наличия в бациллах родственных антигенов вирусов с бактериями в реакции агглютинации с поливалентной сывороткой показало, что из 70 штаммов 20 (28,6%) реагировали в титрах  $6,3-7,3 \log_2$ , 11 (15,7%) – в титрах  $8,3 \log_2$ , 3 (4,3%) –  $9,3 \log_2$ , 3 (4,3%) –

11,3 log<sub>2</sub>, что подтверждено в реакции торможения непрямой гемагглютинации.

2. Введение лабораторным животным бацилл, в которых установлены антигены вируса инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота, способствует выработке противовирусных антител в титрах от 1 : 20 до 1 : 40 log<sub>2</sub>, а у животных, получавших вирус ИРТ, – 1 : 60 log<sub>2</sub>, что свидетельствует о наличии в клеточной стенке бакетрий вирусспецифи-

ческих белков, способствующих выработке вируснейтрализующих антител.

3. С помощью полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с праймерами, гомологичными консервативным участкам генов гликопротеина D и гликопротеина В, в трех штаммах бацилл установлено наличие генома вируса инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота.

### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Лямперт И. М. Этиология, иммунология и иммунопатология ревматизма. – М.: Медицина, 1972. – 262 с.
2. Лямперт И. М. Аутоиммунитет // Успехи соврем. биологии и медицины. – 1976. – Вып. 86, № 2. – С. 274–290.
3. Kaplan M. H., Meyeserian M. An immunological cross-reaction between group-A streptococcal ce Is and human heart tissue // Lancet. – 1962. – Vol. 1. – P. 706–710.
4. Springer G. F. Importance of blood-group substances in interactions between man and microbes // Ann. B. Y. Acad. Sci. – 1970. – Vol. 169. – P. 134–152.
5. Затула Д. Г. Сходство антигенов у микроорганизмов и клеток злокачественных опухолей. – Киев: Наук. думка, 1982. – 248 с.
6. Косяков П. Н., Ровнова З. И. Антигенные компоненты клетки в структуре вириона и значение их для серологической характеристики вируса // Вопр. вирусологии. – 1968. – № 1. – С. 32–36.
7. Красочко П. А., Лысенко А. П., Волосянко Е. В. Явление спонтанной персистенции генома инфекционных вирусов в бактериальных клетках: диплом на открытие № 291 Российской академии естественных наук и Международной академии авторов научных открытий и изобретений (Москва, 18 окт. 2005 г.). – М., 2005. – 25 с.
8. Красочко П. А., Лысенко А. П., Волосянко Е. В. Спонтанная персистенция генома инфекционных вирусов в бактериальных клетках, приводящая к биосинтезу вирусспецифических белков // Эпизоотология, иммунобиология, фармакология и санитария. – Минск, 2004. – № 2. – С. 34–40.
9. Никитин В. М. Справочник методов иммунологии. – Кишинев: Штиинца, 1982. – 304 с.
10. Методы молекулярной генетики и геномной инженерии / под ред. Р. И. Салганика. – Новосибирск: Наука, 1990. – 248 с.
1. Lyampert I. M. *Etiologiya, immunologiya i immunopatologiya revmatizma*. Moscow: Meditsina, 1972. 262 p.
2. Lyampert I. M. *Autoimmunitet* [Uspekhi sovrem. biologii i meditsiny], Vyp. 86, no. 2 (1976): 274–290.
3. Kaplan M. H., Meyeserian M. An immunological cross-reaction between group-A streptococcal ce Is and human heart tissue. *Lancet*, Vol. 1 (1962): 706–710.
4. Springer G. F. Importance of blood-group substances in interactions between man and microbes. *Ann. B. Y. Acad. Sci.*, Vol. 169 (1970): 134–152.
5. Zatula D. G. *Skhodstvo antigenov u mikroorganizmov i kletok zlokachestvennykh opukholey*. Kiev: Nauk. dumka, 1982. 248 p.
6. Kosyakov P. N., Rovnova Z. I. *Antigennyye komponenty kletki v strukture viriona i znachenie ikh dlya serologicheskoy kharakteristiki virusa* [Vopr. virusologii], no. 1 (1968): 32–36.
7. Krasochko P. A., Lysenko A. P., Volosyanko E. V. *Yavlenie spontannoy persistentsii genoma infektsionnykh virusov v bakterial'nykh kletkakh* [diplom na otkrytie № 291 Rossiyskoy akademii estestvennykh nauk i Mezhdunarodnoy akademii avtorov nauchnykh otkrytiy i izobreteniy (Moskva, 18 okt. 2005 g.)]. Moscow, 2005. 25 p.
8. Krasochko P. A., Lysenko A. P., Volosyanko E. V. *Spontannaya persistentsiya genoma infektsionnykh virusov v bakterial'nykh kletkakh, privodyashchaya k biosintezu virusspetsificheskikh belkov* [Epizootologiya, immunobiologiya, farmakologiya i sanitariya]. Minsk. no. 2 (2004): 34–40.

9. Nikitin V.M. *Spravochnik metodov immunologii*. Kishinev: Shtiintsa, 1982. 304 p.
10. *Metody molekulyarnoy genetiki i gennoy inzhenerii* [pod red. R. I. Salganika]. Novosibirsk: Nauka, 1990. 248 p.

#### SCREENING STUDYING THE CATTLE REDNOSE IN VIRAL GENOME BACILLI

**Krasochko P.P., Zhuravleva E.S., Borisovets D.S., Chaykovskiy P.S., Radko V.L.**

*Key words:* virus of the cattle rednose, bacilli, polymerase chain reaction, viral genome, general antigens, viral genome persistence

*Abstract. The research is aimed at screening studying of the cattle rednose in viral genome bacilli and was carried out in several stages. The first stage includes screening of virus antigen relation with bacteria in the process of agglutination with polyvalent serum. The second stage confirms general antigens in the process of indirect hemagglutination suppression. The third stage estimates anti-body producing after animals' immunization with bacilli suspension in comparison with culture virus of the cattle rednose. The fourth stage defines the viral genome by means of real-time polymerase chain reaction with primers, homologous conserved region of glycoprotein D and glycoprotein B. The paper investigates 70 strains and concludes that 28.6% responded at 6,3–7,3 log<sub>2</sub> titer; 15.7% responded at 8,3 log<sub>2</sub>, 4,3% – 9,3 log<sub>2</sub>, 4,3–11,3 log<sub>2</sub> titer. The authors declare, 15 bacilli strains have antibodies entrapped to the cattle rednose virus on bacterial surface when studying in the process of indirect hemagglutination suppression; 10 strains contributed reducing of antibodies titer in 32–64 times; 4 strains reduced antibodies titer in 16 times; and 1 strain reduced it in 8 times. Polymerase chain reaction considers 3 strains to have homologous conserved region of glycoprotein D and glycoprotein B of the cattle rednose. This certifies the viral genome provides persistence in bacteria and they can produce specific antigens contributing to producing animals' antiviral antibodies.*